

ЗАРАЖЕННОСТЬ И БЛОКООБРАЗОВАНИЕ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КОЛИЧЕСТВА ПОПАВШИХ В БЛОХ МИКРОБОВ ЧУМЫ

В. А. Бибикова и А. Н. Алексеев

Среднеазиатский научно-исследовательский противочумный институт, Алма-Ата,
и Центральный научно-исследовательский институт дезинфекции и дезинсекции
Минздрава СССР, Москва

В работе впервые сделана попытка связать частоту блокирования кишечника блох с количеством попавших в него микробов чумы. Применен метод индивидуального дозированного кормления блох определенной концентрацией микробов чумы. Для образования блока у *Xenopsylla cheopis* необходимо проникновение в ее кишечник не менее 60 000 микробов вирулентного штамма чумного микроба. Наиболее часто блок возникал при заражении блохи средними дозами — от 60 000 до 100 000 микробов. Существование строго определенного оптимального для паразита соотношения числа первично проникающих особей с их последующим развитием в хозяине является, по-видимому, общей закономерностью для паразито-хозяинных отношений.

Блокирование микробами чумы кишечника блох определяет реализацию основного механизма передачи возбудителя. Установлено, что доля блокированных блох, способных передать возбудителя чумы, зависит от вида насекомых (Eskey a. Naas, 1940; Флегонтова, 1951; Елкин и Емельянова, 1962, и др.), частоты повторных кровососаний блох (Бибикова и Сахарова, 1956), температуры, при которой живут зараженные блохи (Бибикова и Сахарова, 1956; Бибикова и др., 1963; Шварц и др., 1961; Елкин и Емельянова, 1962; Kartman a. oth., 1959) и, наконец, от интенсивности заражения блох. О последнем авторы обычно судили по доле заразившихся блох (вычисляемой в процентах к числу всех исследованных) и числу микробов, проникших в блоху при питании на больном чумой животном.

Однако методика определения числа микробов, попавших в блох при заражении, во всех случаях (Douglas a. Wheeler, 1943; Картман и др., 1956) состояла из вычисления среднего числа для группы посмертно исследованных блох в начале опыта, причем это среднее механически переносилось на остальные живые экземпляры блох, над которыми продолжали наблюдения. На самом деле хорошо известно, что даже при одно-временном питании на больном чумой животном в одной и той же партии блох наблюдается заметная разница в количестве заглоченных микробов разными особями, а иные экземпляры вообще их не имеют.

Кроме того, экспериментатора, решившего выяснить зависимость блокообразования от количества микробов, сначала попавших в организм блохи, интересует число их в каждой особи насекомого и определенное не посмертным, а прижизненным исследованием.

Избежать указанные недостатки методики оказалось возможным при использовании заражения блох на аппарате дозированного искусственного кормления, описанного нами ранее (Алексеев и др., 1967). При этом удалось не только выявить количественную связь частоты блокообразования блох с дозой микробов, но и установить минимальное число микробов, необходимых для возникновения его в зараженной блохе.

МЕТОДИКА РАБОТЫ

Работа проведена с вирулентным штаммом *Pasteurella pestis* № 161 и блохами *Xenopsylla cheopis* при температуре 20—22° и 90—95% влажности. В опыте были блохи, выплывшие из коконов за 1—11 суток до заражения и отличавшиеся по степени голодания.

Голодными блохами считали тех, которых до заражающего кормления на аппарате не кормили; присасывавшимися считали тех, которых подсаживали на белую мышь и которую они только пытались колоть. И, наконец, пившими считали таких, которые частично всасывали кровь белой мыши перед заражением микробами чумы на аппарате. Всего под наблюдением было 122 зараженные блохи, в которых введено от 100 до 1 200 000 клеток чумного микроба. Каждую из них после заражения держали в индивидуальной пробирке и подсаживали для питания на здоровых белых мышей через каждые два дня. Сразу после возникновения блока преджелудка или после смерти каждую блоху исследовали посевом на агар с десятикратными разведениями содержимого блохи в бульоне Хоттингера до 10^{-6} . С благодарностью отмечаем участие в работе по исследованию и заражению блох Н. М. Хрущевской.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

В табл. 1 приведены результаты обнаружения блокированных и зараженных в пяти группах блох, отличавшихся количеством поглощенных микробных клеток. Наиболее выделяется по частому блокированию и высокой зараженности группа блох, получивших средние дозы микробов: от 50 000 до 100 000 микробных клеток. Меньшие, чем эти, и большие, чем указанная дозировка микробов, сходным образом уменьшали частоту появления блоков и приживаемость микробов в кишечнике блох, о чем мы судили по зараженности в конце опыта. Проникновение в блоху от 100 до 10 000 микробных клеток *P. pestis* не сопровождалось их приживанием, и блохи очень скоро были свободны от них. При введении в блоху выше 100 000 и более миллиона микробных клеток доля зараженных блох была в два раза и более, а число блокированных в пять раз меньше, чем в группе блох со средними дозировками. Эти результаты свидетельствуют об отсутствии однозначной зависимости между образованием блока и количеством поглощенных микробов. Если освобождение блох от небольшого числа микробов (до 10 000 микробных клеток) легко объяснить воздействием бактерицидного фактора, присутствующего в кишечнике блох, то угнетение процесса размножения микробных клеток, когда их попадает

Т а б л и ц а 1

Блокообразование и зараженность *X. cheopis* в зависимости от количества поглощенных микробов *P. pestis*

Количество микробов	Количество блох	Число зараженных блох		Число блокированных	
		абсолютное	относительное к общему числу блох	абсолютное	относительное к общему числу блох
От 100 до 10000	33	—	0.0	—	0.0
От 10000 до 50000	9	2 *	0.22 *	—	0.0
От 50000 до 100000	15	7	0.46	3	0.20
От 100000 до 200000	18	3	0.167	3	0.167
Свыше 200000 до 1200000	47	11 **	0.23 **	2	0.04

* Если исключить один случай гибели блохи на третьи сутки, то 0.11.

** Если исключить пять случаев гибели блох на первые—пятые сутки после заражения, то 0.12.

более 100 000, вероятно, происходило из-за перенаселенности кишечника и неблагоприятных для микроба условий роста и питания.

Наличие во взаимоотношениях микроба чумы с организмом блох определенного оптимального уровня численности микробных клеток, при котором создаются наиболее благоприятные условия существования паразита, по-видимому, носит не только частный характер, но имеет более общее значение в системе паразит—хозяин и в других случаях. Так, имеются данные о существовании оптимальных для заражения условий при средней численности лейшманий, инфицирующих москитов (от 100 до 500 организмов в одном моските). При введении свыше 500 лейшманий процент положительных опытов заражения москитов неизменно падал (Сафьянова и Алексеев, 1967).

Наши наблюдения за *X. cheopis*, получившими определенные дозы микробов, позволили установить минимальный уровень, необходимый и достаточный для образования блока преджелудка при указанных условиях опыта. Таким минимальным числом оказалось 60 000 микробных клеток. Меньшая, чем указанная, доза микробов не приводила к блокированию кишечника. Такая доза в естественных условиях может быть получена блохой при питании на животном, в 1 мм³ крови которого циркулирует около 100 000 микробных клеток.

В табл. 2 дается характеристика восьми заблокированных блох и всех остальных блох. Оказавшихся зараженными вплоть до конца опыта —

Т а б л и ц а 2
Характеристика заблокированных *X. cheopis*

Возраст в сутках	Питание перед заражением	Доза в тысячах микробных клеток	Срок образования блока (в днях)	Число питаний до образования блока к числу предложений	Результаты исследования в микробных клетках			
					1/1000	1/10000	1/100000	1/1000000
1—8	Не было	60	29	4 : 15	172	59	35	11
4—7	Присасывавшаяся, но не пившая	100	14	6 : 7	Множество	80	1	—
4—7	То же	100	15	6 : 7	Множество	77	57	22
5—8	»	150	7	4 : 8	Множество	104	16	—
1—6	Не было	200	31	7 : 17	4	1	—	—
5—8	Присасывавшаяся, но не пившая	200	10	4 : 6	32	6	1	—
3—8	Пившая	360	6	3 : 3	Множество	111	57	2
3—8	»	612	22	7 : 10	27	6	1	—

в табл. 3. Из данных табл. 2 видно, что сроки образования блока оказались наиболее продолжительными у голодных, ни разу не присасывавшихся до заражающего кормления блох (29 и 3). Наименьший срок образования блока (6 дней) был у блохи, частично пившей до заражающего кормления. Наибольшее число живых микробов было выделено из заблокированных блох, получивших те средние дозы микробов, которые были указаны выше. Особенно интересным является факт выделения из заблокированных блох равного (2 случая) и даже меньшего (3 случая) количества микробов, нежели им было дано первоначально. Только в трех случаях для блока оказалось необходимым размножение микробов до количеств, больших исходного. Это указывает, с одной стороны, на уже отмечавшуюся нами ранее первоначальную редукцию количества микробов, вследствие бактерицидного фактора кишечника блох и, с другой — на то, что явление блокообразования зависит не только от количества размножающихся микробных клеток, но обуславливается и другими обстоятельствами, появляющимися в результате взаимодействия организма блохи и микроб-

Т а б л и ц а 3

Зараженность неблокированных *X. cheopis* к концу опыта
в зависимости от исходной дозы

Заражающая доза в микробных клетках	Число особей, зараженных к концу опыта	Число находок блох с микробами при посеве с различными разведениями						
		1—10	1/10	1/100	1/1000	1/10000	1/100000	1/1000000
15000	1	—	1	—	—	—	—	—
50000	2	—	—	1	—	—	1	—
60000	2	—	—	—	—	—	2	—
70000	1	1	—	—	—	—	—	—
200000—400000	6	—	3	—	1	2	—	—
600000—1200000	3	1	1	1	—	—	—	—

ных клеток *P. pestis*. Нам кажется, что в возникновении блока немалую роль играют отмершие микробные клетки, стромы которых заполняют просвет между щетинками и создают коллоидоподобные скопления в полости преджелудка. Последнее неоднократно отмечается на окрашенных срезах преджелудков блокированных блох.

Разный и меньший исходного уровня числа микробов в блокированных блохах указывает на их постепенное накопление после первоначальной резкой гибели.

Полное отсутствие микробов у всех 33 блох, зараженных дозами до 10 000 микробных клеток (табл. 1 и 3) свидетельствует о том, что в результате бактерицидного воздействия в блохе может погибнуть не менее 10 000 микробных клеток. Последующее же накопление микробов особенно результативно при первоначальном попадании 50 000—100 000 микробных клеток. Нет сомнения, что в отдельных случаях могут наблюдаться отклонения от этого правила, так как попадают отдельные невосприимчивые по отношению к микробу чумы особи блох. Свидетельство этому — наличие в других наших опытах среди сотен блох, пивших на больном чумном животном, единичных вовсе не заразившихся блох.

Нельзя не учитывать, что различные взаимоотношения микробов с блохами могут определяться и физиологическим состоянием отдельных особей насекомых. Разную среду для жизни чумного микроба могут представлять не только блохи голодные или пившие, но даже те же голодные особи, но уже пытавшиеся присасываться (табл. 4). Причем последняя группа оказалась наиболее зараженной и блокированной. Напрашивается предположение, что при проколе хоботком кожи и присасывании блохи даже без поглощения крови наступают физиологические изменения в кишечнике блохи, возможно, выделение ферментов, что создает в целом более подходящую среду обитания микробных клеток. Напротив, наличие свежей крови здорового животного в желудке частично напившихся до заражения блох способствует проявлению фагоцитоза микробных клеток, что и объясняет сравнительно меньшую зараженность блох в этой группе (табл. 4). Это тем более вероятно, что в нашем опыте блох заражали культурой *P. pestis*, выросшей на агаре при 28°, когда микробные клетки теряют резистентность к фагоцитозу (Cavanaugh and Randall, 1959).

Следует помнить, однако, что повторные кровососания зараженных блох оказывают в основном стимулирующее действие на размножение чумных микробов, так как возобновляют питательные вещества для микробных клеток (Blanc et Baltazard, 1943; Бибикова и Сахарова, 1956). Однако целые лейкоциты крови хозяина могут принимать участие и в фагоцитозе микробов, хотя это обстоятельство имеет по сравнению с первым подчиненное значение, определяемое коротким временем переживания целых клеток в желудке блох.

Т а б л и ц а 4

Заражаемость и блокообразование у *X. cheopis* в зависимости от их физиологического состояния (при условии получения достаточного для образования блока количества микробов : 60—612 тыс. микробных клеток)

Характеристика блох	Число блох в опыте	Число блох, зараженных к моменту их гибели		Число блох с блоком		Всего зараженных	
		абсолютное	%	абсолютное	%	абсолютных	%
Голодные	24	5	20.8	2	8.3	7	29.2
Присасывавшиеся, но не пившие	13	2	15.4	4	30.8	6	46.2
Частично напитавшиеся	27	4	14.3	2	7.4	6	22.2

Количество блох, сумевших освободиться от микробов в течение своей жизни, явно зависит от заражающей дозы (табл. 1). Продление же срока жизни после освобождения блох от меньших доз более значительное, нежели от интенсивного заражения (табл. 5). Это можно объяснить разницей в величине ущерба, нанесенного организму блох интенсивным заражением. Паразитирование огромного числа микробов связано с накоплением в кишечнике блох продуктов метаболизма, а также экзо- и эндотоксинов, отравляющих организм блохи. Сейчас нельзя указать на те патологические изменения в клетках и тканях, которые происходят в результате отравления органов блох токсическими веществами, но можно с уверенностью отметить факт ускоренного отмирания зараженных насекомых. В первую очередь страдают алиментарные функции блохи, что выражается в полном голодании заблокированных особей и сокращении числа питаний у зараженных. Последнее наблюдалось и в настоящей работе: *X. cheopis*, зараженные 210 000—1 200 000 микробных клеток *P. pestis*, пили кровь в среднем 2.7 раза, 12 000—200 000 микробных клеток — 3.5 раза против 7.7 питаний незараженных блох, хотя всем блохам были предоставлены одинаковые условия питания на теплокровном хозяине (табл. 6). Продолжительность жизни блох, получивших сравнительно небольшую дозу микробов (120—10 000), особенно тех из них, которые до заражения уже были частично питающимися, показывает незначительное сокращение среднего срока жизни по сравнению с тем, что известно для незаражавшихся блох в других опытах, но в сходных условиях содержания (45 дней). По-видимому, при такой дозе проявляются самые первые признаки угнетения жизнедеятельности блох, т. е. мы наблюдаем нижний порог пато-

Т а б л и ц а 5

Средняя продолжительность жизни зараженных (неблокированных) и освободившихся от микробов *X. cheopis* в зависимости от интенсивности первичного заражения и физиологического состояния насекомых

Заражающая доза в микробных клетках	Результат посмертного исследования блох	Физиологическая характеристика блох перед заражением					
		голодные		присасывавшиеся		частично пившие	
		число блох	срок жизни (в днях)	число блох	срок жизни (в днях)	число блох	срок жизни (в днях)
120—10000	Освободившиеся от микробов	11	8.0	—	—	22	43.5
	Зараженные	—	—	—	—	—	—
12000—1200000	Освободившиеся от микробов	21	22.5	9	19.1	35	30.2
	Зараженные	7	9.1	2	3.0	6	9.0

Т а б л и ц а 6
Среднее число насыщений кровью белой мыши
от заражения до гибели *X. cheopis*
(включая блокированных)

Доза заражения в микробных клетках	Состояние блох к мо- менту гибели	Среднее число питаний	Число блох в опыте
120—10000	Освободившиеся от микробов	4.8	33
	Зараженные	—	—
12.000— 200.000	Освободившиеся от микробов	5.1	33
	Зараженные	3.5	13
240.000— 1.200.000	Освободившиеся от микробов	7.7	33
	Зараженные	2.7	10

генного воздействия микробов на организм блохи. Это предположение мы, естественно, высказываем осторожно и только для данного вида блохи, штамма микроба и условий опыта, при которых жили блохи.

ВЫВОДЫ

1. Для образования блока преджелудка *X. cheopis* необходимо заражение блохи не менее чем 60 000 микробных клеток вирулентного штамма *P. pestis* № 161.

2. Наиболее интенсивный процесс размножения в блохе чумных микробов и блокообразования отмечается при первичном попадании в блоху средних доз микробов — 60 000—100 000 микробных клеток. Дальнейшее увеличение числа первично попадающих микробов не только сокращает число блокированных, но и число зараженных блох.

3. Следует признать, что развитие наиболее выгодных отношений с хозяином создается при строго определенном соотношении числа первично проникающих паразитов. Сопоставляя результаты наших опытов с данными о лучшей заражаемости москитов средними дозами лейшманий, можно предположить, что существование строго определенных оптимальных для паразита соотношений числа первично проникающих особей с их последующим успешным развитием в хозяине является общей закономерностью для обоих указанных систем паразита и хозяина.

Л и т е р а т у р а

- А л е к с е е в А. Н., Б и б и к о в а В. А. и Х р у с ц е л е в с к а я Н. М. 1967. Методика индивидуального дозированного заражения блох микробами чумы. Паразитол., 1 (2) : 176—179.
- Б и б и к о в а В. А., М е д в е д е в с к и х В. И. и Д а н к о в С. С. 1963. К эпизоотологической роли блох больших песчанок. Сообщ. 4. *Xenopsylla skrjabini* Joff, 1928. Мед. паразитол. и паразитарн. болезни, 5 : 622.
- Б и б и к о в а В. А. и С а х а р о в а В. В. 1956. Заражающая способность блох *Oropsylla silantiewi* и влияние на нее повторных кровососаний и температуры содержания. Тр. Средне-Азиатского н.-иссл. противочумн. инст., 2 : 41—48.
- Е л к и н Ю. М. и Е м е л ь я н о в а Л. И. 1962. Сравнительное изучение активности блох *Xenopsylla conformis* и *Ceratophyllus laevis* как переносчиков чумы. Тр. Аз. противочумн. станции. Баку, 3 : 64—69.
- С а ф ь я н о в а В. М. и А л е к с е е в А. Н. 1967. Опыты по восприимчивости москитов к различным штаммам лептосомнад. Паразитол., 1 (3) : 191—199.
- Ф л е г о н т о в а А. А. 1951. Экспериментальное изучение инфекционного потенциала некоторых видов блох, паразитирующих на сусликах и песчанках. Тр. инст. «Микроб», 1 : 192—205.
- Ш в а р ц Е. А., К л а с с о в с к и й Л. Н. и Я щ е н к о Н. В. 1961. К изучению роли блох сурков в передаче и хранении инфекции. Тр. Средне-Азиатского н.-иссл. противочумн. инст., 7 : 183—188.

- Blanc G. et Baltazard M. 1943. Quelques remarques á propos du memoire de Girard. Bull. soc. path. exot., 36, 7—8 : 208—217.
- Cavanaugh D. C. a. Randall R. 1959. The role of multiplication of *Pasteurella pestis* in mononuclear phagocytes in the pathogenesis of flea-borne plague. I. Immunology, 83 (4) : 348.
- Douglas I. a. Wheeler C. 1943. Sylvatic plague studies. II. The fate of *Pasteurella pestis* in the flea. Journ. of Infect. Dis., 72 (1) : 19—30.
- Eskey C. R. a. Haas V. H. 1940. Plague in the western part of the United States. U. S. Public Health Service, Public Health. Bull., 254 : 1—83.
- Kartman L., Prince F. M. a. Quan S. F. 1956. Studies on *Pasteurella pestis* in Fleas. III. Comparative plague-vector efficiency of *Xenopsylla vexabilis hawaiiensis* and *Xenopsylla cheopis*. Bull. World Health Organiz., 14 : 684—704.

INFESTATION AND BLOCK-FORMATION IN RELATION
TO THE NUMBER OF MICROBES OF PLAGUE PENETRATED
INTO FLEAS

V. A. Bibikova and A. N. Alekseev

S U M M A R Y

The attempt was made to associate the frequency of blocking the intestine of fleas with the number of plague microbes penetrated into it. The method was used of individual dose feeding of fleas with definite concentration of plague microbes. Not less than 60 000 plague microbes of the virulent strain must penetrate into the intestine of *Xenopsylla cheopis* for the block to be formed. Mostly often the block develops at the infestation of a flea with average doses ranging from 60 000 to 100 000 microbes.
